

Lysyl Endopeptidase, Mass Spectrometry Grade 说明书

Cat NO. 125-05061

该产品可特异性切割赖氨酸肽链的羧基端的多肽，非常适合用于蛋白序列分析和 Lys - X 化合物的酶催化合成。

来源：细菌

外观：冻干粉（包含 2 mmol/L Tris-HCl 缓冲液，pH 8）

活性：0.03 ~ 0.07 AU/vial

分子量：27,000(琼脂糖过滤)，30,000 (SDS-PAGE)

溶解性：溶于水或缓冲液

稳定性：溶解于 pH 值 5.0-12.0 的 Tris 缓冲液中，可在 4°C 稳定保存 2 年；在 pH 值 6.0-11.0 30°C 时能稳定保存，但温度超过 50°C 时不稳定。

最适 pH 值：9.0~9.5

等电点：6.9~7.0

底物特异性：

可水解底物——Tos-Lys-OMe, Bz-Lys-NH₂, Bz-Lys-pNA, Lys-pNA

不可水解底物——Bz-Arg-NH₂, Bz-Arg-pNA, Arg-pNA

抑制剂：DFP, PMSF, TLCK

实验方法：

1 试剂：

A. 0.2 mol/L AMP 缓冲液，pH 值 9.5

溶解 4.2g 的 2-氨基-2-甲基-1, 3-丙二醇于 150 mL 的水中，加入 1 mol/L HCl 调 pH 值至 9.5，再加水使体积至 200 mL。

B. 2.5 mmol/L 底物溶液

溶解 22.6 mg 的 Na-苯甲酰-DL-赖氨酸-4-硝基苯胺氢溴酸盐于 20 mL 水中。

C. 2 mmol/L Tris-HCl 缓冲液，pH 8

溶解 0.24 mg 的 2-氨基-2-羟甲基-1,3-丙二醇于 900mL 水中，加入 0.1 mol/L HCl 调 pH 值至 8，再加水使体积至 1L。

D. 酶溶液

溶解 1 vial 的赖氨酰肽链内切酶于 1 mL 的溶剂 C 中，可直接加入。

E. 终止溶液

将 55 mL 水和 45 mL 乙酸混合均匀。

2. 步骤

试剂	检测样品	空白对照
A	2.6 mL	2.6 mL
B	0.3 mL	0.3 mL
	30°C 预培养 5 分钟	
D	0.1 mL	-
C	-	0.1 mL
	立即混合均匀，30°C 预培养 25 分钟	
E	1.0 mL	1.0 mL

3. 单位的定义

酰胺酶单位是指 30°C pH9.5 时，每分钟产生 1 μmol 对硝基苯胺的酶量。

$$\text{AU/vial} = \frac{a-b}{25} \times \frac{1}{9.62} \times \frac{4.0}{0.1}$$

- a. 检测样品中的吸光度
- b. 空白对照中的吸光度

胶内酶切的实验操作流程：

用聚硅酮处理的微量离心管和吸管端防止捕获任何蛋白。使用质谱分析用凝胶染色试剂盒，例如银染剂 MS 试剂盒（产品编号：299-58901）和负凝胶染色 MS 试剂盒（产品编号：293-57701）

1. 电泳分离蛋白质样品；
2. 从凝胶中切割蛋白质片断并放入微量离心管；
3. 使凝胶脱色（可使用质谱分析用凝胶染色试剂盒中的脱色溶液）；
4. 加入 300 μL 乙腈到试管里，搅拌器振荡 30 分钟；
5. 去除乙腈，用 Parafilm 膜覆盖微量离心管。
6. 在 Parafilm 膜上打出针孔，真空干燥 15 分钟；
7. 100 μL 10 mmol/L DTT 溶解于 100 mmol/L 碳酸氢铵，56°C 恒温 1 小时。

8. 室温冷却后, 用等量的 50mM 碘乙酰胺溶解于 100 mmol/L 碳酸氢铵, 暗处恒温 45 分钟并涡旋;
9. 用 100 uL 100 mmol/L 碳酸氢铵洗涤凝胶片段 10 分钟;
10. 用 300 uL 乙腈干燥凝胶片段 15 分钟;
11. 用 100 uL 100 mmol/L 碳酸氢铵溶胀凝胶片段 15 分钟;
12. 用 300 uL 乙腈再次干燥凝胶片段 15 分钟;
13. 去除液相, 真空干燥凝胶片段 15 分钟;
14. 用 100 uL 赖氨酸内切酶溶液*在冰水浴中溶胀凝胶片段 45 分钟;
*赖氨酸内切酶稀释于 50 mmol/L Tris-HCl pH 8.5;
15. 去除 100 uL 赖氨酸内切酶溶液, 将凝胶片段放在 37°C 10 uL 50 mmol/L Tris-HCl pH 8.5 中过夜;
16. 加入 50 uL 20mmol/L 碳酸氢铵 20 分钟内振荡凝胶片段 3 次抽提多肽;
17. 加入 5%甲酸/50%乙腈 20 分钟内振荡凝胶片段 3 次抽提多肽;
18. 如果需要用 Speed Vac.浓缩多肽;
19. 用 ZipTip 脱盐和纯化多肽;
20. 如果需要用弱真空浓缩多肽至 2 uL;
21. 加入基质进行质谱分析。

注意: 根据细菌的生理和形态特征分类, 产品来源为水解无色杆菌, 但是最近细菌分类学将这种细菌鉴定为产酶溶杆菌。

保存: 暗处-20°C保存

规格: 20 ug×5 vial

上述试剂仅供实验研究用,不可用作“医药品”、“食品”、“临床诊断”等。

Listed products are intended for laboratory research use only, and not to be used for drug, food or human use. / Please visit our online catalog to search for other products from FUJIFILM Wako: <https://labchem-wako.fujifilm.com/> / This leaflet may contain products that cannot be exported to your country due to regulations. / Bulk quote requests for some products are welcomed. Please contact us.

富士胶片和光(广州)贸易有限公司

广州市越秀区先烈中路69号东山广场30楼
3002-3003室

北京 Tel: 13611333218

上海 Tel: 021 62884751

广州 Tel: 020 87326381

香港 Tel: 852 27999019

询价: wkgz.info@fujifilm.com

官网: labchem.fujifilm-wako.com.cn

官方微信



目录价查询

